Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
(Direktor: Prof. Dr. K. Kochsiek)

DER EINSATZ DES ELEKTROCHEMISCHEN MULTIMESSYSTEMS UND DER CARRIERMEMBRAN-DISK-ELEKTRODE ZUR KONTINUIERLICHEN UND DISKONTINUIERLICHEN BESTIMMUNG DES IONISIERTEN CALCIUMS IN DEN KÖRPERFLÜSSIGKEITEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Heinz Maier

aus Aschaffenburg

Würzburg, den 02.02.1981

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
(Direktor: Prof. Dr. K. Kochsiek)

DER EINSATZ DES ELEKTROCHEMISCHEN MULTIMESSSYSTEMS UND DER CARRIERMEMBRAN-DISK-ELEKTRODE ZUR KONTINUIERLICHEN UND DISKONTINUIERLICHEN BESTIMMUNG DES IONISIERTEN CALCIUMS IN DEN KÖRPERFLÜSSIGKEITEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Heinz Maier

aus Aschaffenburg

Würzburg, den 02.02.1981

Referent: Prof. Dr. A. Heidland
Korreferent: Prof. Dr. K. Kochsiek
Dekan: Prof. Dr. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 16.Februar 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I	Einleitung	1
II	Ionenselektive Elektroden	3
	1) Meßprinzip ionenselektiver Elektroden	3
	2) Einteilung ionenselektiver Elektroden	7
	3) Die calciumselektive Disk-Elektrode und das elektrochemische Multimeßsystem für strömende Flüssigkeiten und Gase	7
	a) Elektrochemisches Multimeßsystem mit auswechselbaren Disk-Elektroden	7
	b) Strömungsoptimiertes Multimeßsystem	9
III	Untersuchungen zur Leistungsfähigkeit elektrisch geladener und elektrisch neutraler Liganden als aktive Elektrodenphase	11
	1) Methodik	11
	a) Technologie	11
	b) Meßgut	11
	2) Ergebnisse	12
	3) Diskussion	15
IV	Die Bestimmung des ionisierten Calciums im menschlichen Serum	17
	1) Methodik	17
	a) Meßgut	17
	b) Labormethoden	17
	c) Probenentnahme, Aufbereitung und Lagerung mit Hilfe der Monovettentechnik	17
	d) Elektrodeneichung und Messung	19
	2) Ergebnisse	22
	3) Diskussion	22
V	Die Bestimmung des ionisierten Calciums im Vollblut	27
	1) Methodik	27
	a) Meßgut	27
	b) Probenentnahme, Aufbereitung und Messung	27

2) Ergebnisse 27
3) Diskussion 30

VI Die Bestimmung des ionisierten Calciums im Parotisspeichel und Urin 31

1) Parotisspeichel 31
a) Methodik 31
a_1) Meßgut 31
a_2) Probengewinnung, Aufbereitung und Messung 31
b) Ergebnisse 32
2) Urin 33
a) Methodik 33
a_1) Meßgut 33
a_2) Probengewinnung, Aufbereitung und Messung 33
b) Ergebnisse 34
3) Diskussion 34

VII Die flußratenabhängige Bestimmung von ionisiertem Calcium und Gesamtcalcium im Parotisspeichel von Normalpersonen und Patienten mit essentieller Hypertonie 35

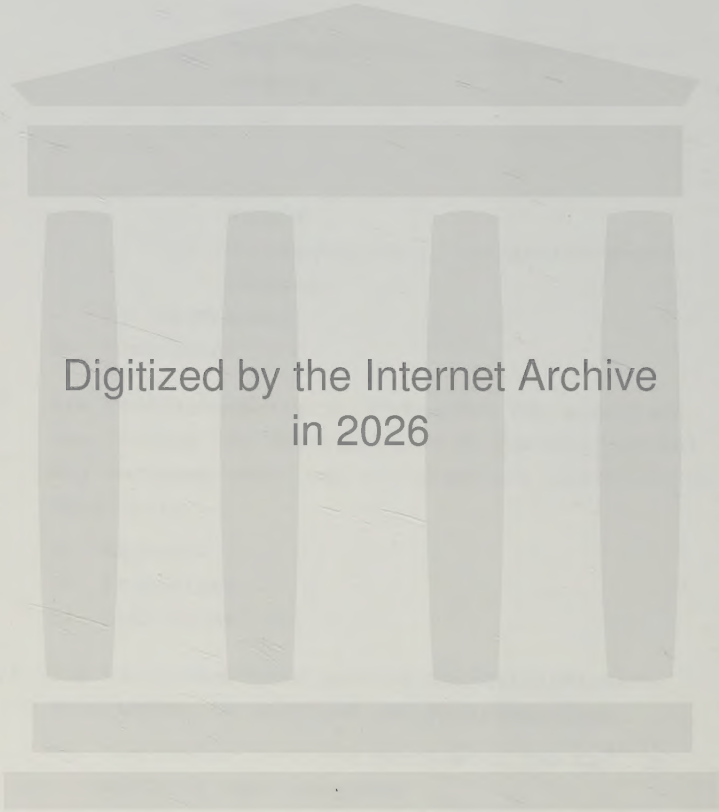
1) Methodik 35
2) Ergebnisse 35
3) Diskussion 37

VIII Die kontinuierliche Messung der Calciumionenaktivitäten im Vollblut und Pankreassekret 39

1) Die kontinuierliche Bestimmung der Ca^{++} im Vollblut des Schweines 39
a) Versuchsaufbau 39
b) Ergebnisse 40
2) Die kontinuierliche Bestimmung des Ca^{++} im Pankreassekret des Hundes 40
a) Versuchsaufbau 40
b) Ergebnisse 40
3) Diskussion 43

IX Zusammenfassung 44

X Literaturverzeichnis I - VII


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543527_0003

I Einleitung

Bereits 1911 entdeckten Rona und Takahashi (36, 37), daß Calcium im Serum in zwei Erscheinungsformen, einer nicht diffusiblen, proteingebundenen und einer diffusiblen Fraktion vorliegt. Letztere wurde 1926 durch Greenwald (13) in komplexgebundenes und ionisiertes Calcium unterteilt.
Dabei spielt vor allem die ionisierte Form eine hervorragende Rolle, wie die Versuche von McLean und Hastings am isoliert schlagenden Froschherzen schon im Jahre 1925 eindrucksvoll dokumentierten. Heute weiß man, daß ionisiertes Calcium für zahlreiche physiologische Prozesse, wie zum Beispiel Blutgerinnung (57), Muskelkontraktion (55, 56), Erregungsbildung und -leitung, Enzymaktivierung (20, 57) und viele andere von entscheidender Bedeutung ist. Diese übergeordnete Rolle macht auch verständlich, daß nach bisherigen Kenntnissen allein die ionisierte Serumcalciumfraktion einer fein eingespielten endokrinen Regulation durch PTH und Calcitonin unterliegt und Störungen dieses Regelkreises, wie sie bei den Krankheitsbildern des Hypo- und Hyperparathyreodismus auftreten, empfindlich reflektiert.
Es liegt auf der Hand, daß die Messung des ionisierten Calciums in den Körperflüssigkeiten sowohl von wissenschaftlichem als auch von klinisch diagnostischem Interesse ist. Doch die Bestimmung von freien Calciumionen war bis vor kurzer Zeit mit erheblichen methodischen Schwierigkeiten verbunden und somit auf wenige Speziallaboratorien beschränkt.
Die früher gebräuchlichen Methoden wie der Bioassay unter Benutzung des isolierten Froschherzens (29, 30) oder der kolorimetrische Nachweis von Calciumionen mit Hilfe von Murexid als Komplexbildner (21, 41) sind mit erheblichem Arbeitsaufwand und relativ hohem Analysenfehler behaftet und erfordern in der Regel ein hohes Probenvolumen (54).
Erst mit der Entwicklung calciumselektiver Elektroden wurde eine Methode ins Leben gerufen, die eine weitgehend exakte Messung erlaubte. Die meisten der bisher entwickelten Elektrodenmeßketten erforderten jedoch zur Vermeidung von Meßfehlern ebenfalls großes Geschick in der Handhabung und

konnten aufgrund hoher Störionenempfindlichkeit, insbesondere gegenüber Protonen, lediglich bei Messungen im Plasma oder Serum eingesetzt werden.
Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen neuartigen Elektrodenmeßkettenaufbau, die calciumselektive Disk-Elektrode und das elektrochemische Multimeßsystem für strömende Flüssigkeiten und Gase nach Schindler (43) zur Bestimmung der Calciumionenaktivität in verschiedenen Körperflüssigkeiten zu testen und bei der Bearbeitung klinisch experimenteller Fragestellungen einzusetzen.

II Ionenselektive Elektroden

1 Meßprinzip ionenselektiver Elektroden

Bei der Messung mit ionenselektiven Elektroden handelt es sich um ein potentiometrisches Verfahren. Die Elektrodenmeßkette besteht dementsprechend aus einer ionenselektiven Meßelektrode und einer Bezugselektrode, die mit einem Voltmeter verbunden sind. Über die Elektrolytlösung wird der Stromkreis geschlossen.
Die Vorgänge, die zur Ausbildung der zu messenden Potentialdifferenz führen, spielen sich an der Phasengrenze Elektrodenmaterial/Elektrolyt ab und lassen sich bei Betrachtung des atomistischen Bildes am besten verstehen: In ausreichendem Abstand von der Phasengrenze entfernt herrscht in beiden Phasen weitgehend Elektroneutralität. In der Nähe der Phasengrenze wird nun diese Ordnung der geladenen Teilchen erheblich gestört, denn das Ion nimmt die Elektrodenoberfläche mit ganz anderen Eigenschaften wahr als die Mehrzahl der übrigen Ionen und Dipolmoleküle im Inneren des Elektrolyten. Für die Elektronen oder Atome im Elektrodenmaterial gilt entsprechendes. In unmittelbarer Nähe der Phasengrenze kommt es infolgedessen zu einem Nettovektor, der auf ein Teilchen wirkenden Kräfte (4). Die daraus resultierende Anisotropie an der Phasengrenze führt zu einer Umorientierung der Teilchen. Es kommt zur Dipolorientierung in der Nähe der Elektrodenoberfläche. Die ausgerichteten Dipole an der Elektrodenoberfläche können als eine geladene Kondensatorplatte im Abstand d_H von der Oberfläche gedacht werden (4). Die Schwerpunkte dieser ausgerichteten Solvensmoleküle bilden die innere Helmholtz-Fläche. Unter dem Einfluß der Anisotropie im Phasengrenzbereich können jedoch auch hinter der beschriebenen Solvensschicht Ionen gegenüber der mittleren Konzentration vermehrt oder vermindert vorliegen. Die Fläche, auf der man sich die Mehrzahl dieser Ionen vorstellt, wird als äußere Helmholtz-Fläche bezeichnet. Dieser Ladungsüber- oder Unterschuß im Abstand $d_{H\,a}$ induziert wiederum eine gleich große, jedoch entgegengesetzte Ladung auf der Elektrodenoberflä-

che (4). Neben dieser Ladungstrennung kommt es aber auch zum Ladungsaustausch zwischen der ionenselektiven Membran und der angrenzenden Solvensschicht, vorausgesetzt, daß dies für die Ionen in der Elektroden- oder Solvensschicht einen Energiegewinn bedeutet. Richtung und Ladungsgleichgewicht dieser Reaktion orientieren sich nach dem Zustand, in dem die geringste Energie gegeben ist (11). Durch den Übertritt von Ionen über die Phasengrenze kommt es zum Ladungsaustausch, also zur stärkeren Aufladung einer Phase gegenüber der anderen, die als Potentialdifferenz meßbar wird. Ionenselektive Membranen zeichnen sich dadurch aus, daß sie einer Ionenart bevorzugt den Transport von Elementarladungen gestatten (11).

Um nun die zwischen Elektrodenoberfläche und Elektrolyt bestehende Potentialdifferenz messen zu können, ist eine Bezugselektrode mit konstantem Potential notwendig. Da das Bezugselektrodenpotential konstant bleibt, hängt die Größe des Meßelektrodenpotentials lediglich von der Ionenaktivität der Meßlösung ab, wie aus der Nernst'schen Gleichung hervorgeht:

$$E = E_o \pm 2{,}303 \frac{R \cdot T}{Z \cdot F} \lg a_i$$

E = Elektrodenpotential der Meßkette
Eo= konstantes Standardelektrodenpotential
R = allgemeine Gaskonstante
T = absolute Temperatur
Z = Zahl der Ladungen des Einzelions
F = Faraday-Konstante
a_i= Aktivität der Meßionen i

Die Größe $2{,}303 \frac{R \cdot T}{Z \cdot F}$ wird häufig als Nernst-Faktor "S" als Nernst'sche Steilheit der Elektrode zusammengefaßt (11). Die theoretische Elektrodensteilheit beträgt für einwertige Ionen bei 25 °C 59,16 mV pro Aktivitätsdekade und vermindert sich entsprechend um den Faktor Z für mehrwertige Ionen. Sie ist temperaturabhängig und ändert sich bei einer Temperaturschwankung von 5 °C um etwa

1 mV (47). Aus der Nernst-Gleichung kommt gleichzeitig der halblogarithmische Zusammenhang zwischen der Aktivität a_i der Ionen in der Meßlösung und dem Elektrodenmeßkettenpotential zum Ausdruck.
Von großer Bedeutung ist die Tatsache, daß bei allen bis heute bekannten ionenselektiven Membranen auch die Aktivität verschiedener Störionen, für die die Membranen eine mehr oder weniger große Selektivität aufweisen, in die Messung mit eingeht. Aus diesem Grund wurde als quantitative Kennzahl des Spezifitätsgrades das Selektivitätsverhältnis von Mession zu Störion eingeführt. Dabei wird das Mession bei gegebenem Störionenpegel um so bevorzugter angezeigt, je kleiner der Wert für das Selektivitätsverhältnis ist. Bei diesem Wert handelt es sich um keine Konstante, sondern um einen Richtwert, der von den absoluten Ionenstärken von Mess- und Störionen abhängt (47).
Das Selektivitätsverhältnis einer Elektrode kann experimentell bestimmt werden durch Veränderung der Messionenaktivität bei konstant gehaltener Störionenaktivität (47).

$$E = (E_2' - E_1') + \frac{2{,}303 \cdot RT}{Z_i \cdot F} \log \frac{a_{i2} + K_{m-s}\, a_{s2}^{\frac{Zi}{Zs}}}{a_{i1} + K_{m-s}\, a_{s1}^{\frac{Zi}{Zs}}}$$

E = EMK-Differenz
Z_i = Ionenladung Mession
Z_s = Ionenladung Störion
a_{i1} = Aktivität Mession 1
a_{i2} = Aktivität Mession 2
a_{s1} = Aktivität Störion 1
a_{s2} = Aktivität Störion 2
K_{m-s} = Selektivitätsverhältnis Mession/Störion (S)

Nach experimenteller Bestimmung des Nernst-Faktors der Elektrode sowie unter der Annahme, daß sich E' konstant verhält, kann durch EMK-Messungen in zwei Eichlösungen mit bekannten Aktivitäten der ionen-10-fachen Messionenaktivitätsänderungen bei konstantem Störionengehalt - E ermit-

telt werden (47). Als näherungsweise Angabe über die ionale Störbarkeit einer Elektrode kann das Selektivitätsverhältnis in der Nernst-Gleichung berücksichtigt werden (4).

Wie in der Nernst-Gleichung schon ausgedrückt, wird mit ionenselektiven Elektroden nicht die Ionenkonzentration c_i sondern die Ionenaktivität a_i direkt bestimmt. Diese beiden Größen dürfen nach der Gleichung $a_i = \gamma_i \cdot c_i$ nur dann gleichgesetzt werden, wenn der Aktivitätskoeffizient γ_i, der für verdünnte, wässrige Lösungen nach der Modellvorstellung der Debye-Hückel-Theorie (1) unter Verwendung der Kiellandschen Formel (18) näherungsweise errechnet werden kann, gleich 1 gesetzt wird. Dies ist nur bei Ionenstärken unter 10^{-3} mol/l für einwertige und 10^{-4} für zweiwertige Ionen möglich (47).

Faktoren, wie Art des Lösungsmittels, Temperatur und Durchmesser der Ionen, üben einen zusätzlichen Einfluß auf den Aktivitätskoeffizienten aus. Um über die Konzentration etwas aussagen zu können, reicht es jedoch meist aus, die Standardlösungen in Bezug auf Temperatur und totale Ionenstärke den Proben anzupassen (11).

2 Einteilung ionenselektiver Elektroden

Aufgrund ihrer unterschiedlichen Membranstruktur lassen sich verschiedene Elektrodentypen unterscheiden.

1. Glasmembranelektroden
2. Einkristallmembranelektroden
3. Homogene Festkörpermembranelektroden
4. Heterogene Niederschlagsmembranelektroden
5. Drahtüberzugelektroden
6. Flüssigmembranelektroden
7. Coated glass-Elektroden
8. Disk-Elektroden

Funktionsprinzip und technische Details dieser Elektroden sind an anderer Stelle ausführlich beschrieben (6, 7, 8, 9, 5, 3, 52, 35). Hier soll lediglich auf die Disk-Elektroden näher eingegangen werden.

3 Die calciumselektive Disk-Elektrode und das elektrochemische Multimeßsystem für strömende Flüssigkeiten und Gase (43)

Die im Rahmen dieser Arbeit beschriebenen Messungen wurden mit in der Konstruktion unterschiedlichen, vom Funktionsprinzip jedoch ähnlichen Prototypen des elektrochemischen Multimeßsystems durchgeführt.

a) Elektrochemisches Multimeßsystem mit auswechselbaren Disk-Elektroden (Abb. 1)
Das Meßsystem ist von einem Metallrahmen mit Abschirmungsaufgaben im Sinne eines Faradaykäfigs umgeben. Es enthält würfelförmige Isolierkörper mit prominenten Dichtflächen. Das Dach der beidseits eingefräßten, wannenförmig abgeflachten Durchflußkammern bildet die Membran der Disk-Elektrode, die mit einem metallischen Festkontakt für die Potentialableitung versehen ist. Der Festkontakt wird durch einen Acrylglasmantel gesichert. Mit Hilfe eines Drehmomentschlüssels wird die Stirnfläche des Elektrodenkörpers aus PTFE dichtend gegen den Rand der Durchflußkammer angezogen. Durch die strömungsbegünstigte Konstrukti-

a) Ionenselektives Multimeßsystem. 1= Metallrahmen, 2= Gegendruckplatte, 3= Andruckplatte, 4= parallelepipedischer Isolierkörper, 5= Meßkammer, 6= ionenselektive Disk-Elektrode (Sensor), 7= Sechskant, 8= Stromschlüsselkontaktstecker, 9= Befestigungsschrauben, 10= Andruckschraube, 11= Zufluß, 12= Ablauf, 13= Verbindungsschlauch.

b) Stromschlüsselkontaktstecker: 1= PTFE-Stopfen mit Mikrokerbe, 2= Stromschlüsselkontaktzone, 3= Bezugslösung, 4= Acrylglaswandung, 5= Gewinde, 6= Sechskant, 7= Verbindungsstück.

c) Ionenselektive Dis-Elektrode. 1= Platindraht, 2= Acrylglasmantel, 3= ionenselektiver Kunststoff, 4= versilberte, PTFE-isolierte Cu-Litze, 5= Elektrodenkörper, 6= Gewinde, 7= Sechskant für Drehmomentschlüssel, 8= Steckkontakt.

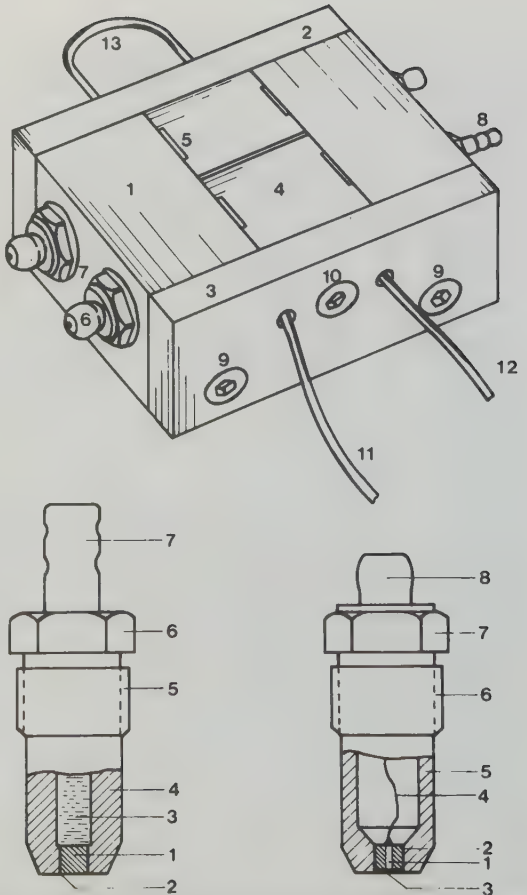


Abb. 1: a - c: Ionenselektives Multimeßsystem mit Sensoren und Stromschlüsselkontaktstecker (8)

on von Durchflußkanal und Kammern, sowie die konkave Gestaltung der Elektrodenoberfläche wird die Entstehung elektrokinetischer Störpotentiale bei wechselnden Strömungsgeschwindigkeiten vermieden. Der auswechselbare Stromschlüsselkontaktstecker ist mit einer mikrokapillären Kontaktzone zwischen Meß- und Bezugslösung (3m KCl) in Form eines PTFE-Stopfens mit Mikrokerbe versehen. Als Referenzelektrode dient eine Ag/AgCl-Elektrode, die über den Bezugsstopfen mit der Meßlösung in Verbindung steht.

b) Strömungsoptimiertes Multimeßsystem (Abb. 2)
Dieses Meßsystem besteht aus einem Acrylglasblock, in den ionenselektive Disk-Elektroden fest eingearbeitet sind. Der Durchflußkanal ist rechteckig gestaltet und weist stromlinienförmige Erhebungen auf, die eine stau- und turbulenzarme Strömung ermöglichen und eine trägheitsarme und präzise ionenselektive Analytik gewährleisten (44). Das Referenzsystem weist keine Unterschiede zu a) auf. In beiden Systemen enthalten die Disk-Elektroden einen synthetischen, elektrisch neutralen Modellcarrier (2) vom Typ der Dioxakorksäurediamide als aktive Phase. Eich- und Meßlösung werden mittels einer nachgeschalteten Rollerpumpe durch den Durchflußkanal gesaugt. Die Meßwertregistrierung erfolgt mit einem Digitalelektrometer DE 751 der Firma Fresenius Apparatebau KG in Bad Homburg v. H.

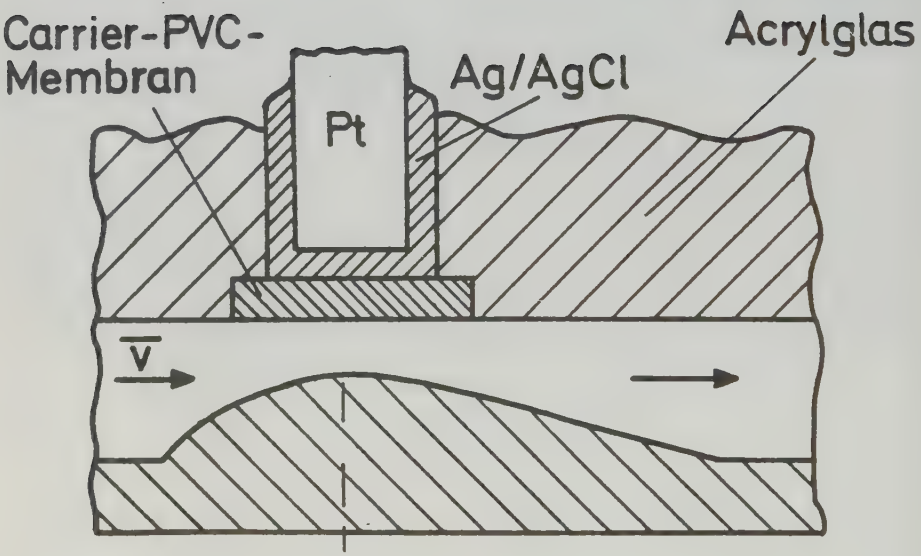


Abb. 2: Durchflußkanal im strömungsoptimierten Multimeßsystem

III Vergleichende Untersuchungen zur Leistungsfähigkeit elektrisch geladener und elektrisch neutraler Liganden als aktive Elektrodenphase (27)

Die Eigenschaften einer ionenselektiven Elektrode, wie Meßgenauigkeit, Meßgeschwindigkeit, Analysenfehler und insbesondere die Fähigkeit zur Diskriminierung von Störionen werden in hohem Maße von der aktiven Elektrodenphase bestimmt. Die herkömmlichen elektrisch geladenen Liganden zeigen eine geringe Diskriminierungsfähigkeit von Protonen gegenüber Calciumionen, was zu erheblichen Meßwertverschiebungen bei der Analyse von sauren Körperflüssigkeiten, beziehungsweise bei der Benutzung von Eichlösungen mit niedrigem pH führen kann. Die Synthese eines neuartigen elektrisch neutralen Modellcarriers ermöglichte eine weitgehende Eliminierung dieser Fehlerquelle. Im Folgenden wurde die Leistungsfähigkeit von elektrisch geladenen Liganden vom Typ der Organophosphorsäuren und eines elektrisch neutralen Modellcarriers vom Dioxakorksäurediamidtyp bei Messungen in wässrigen Lösungen und anaeroben Serummessungen vergleichend untersucht.

1 Methodik:

a) Technologie:
Das elektrochemische Multimeßsystem wurde mit drei Disk-Elektroden, von denen zwei elektrisch geladene Liganden vom Typ der Organophosphorsäure und eine einen elektrisch neutralen Liganden vom Dioxakorksäurediamidtyp als aktive Phase enthielten, bestückt. Die über einen PVC-Schlauch in Verbindung stehenden Meßkammern (siehe Abb. 1) ermöglichten eine nahezu simultane Messung in der gleichen Probe und erlaubten damit einen direkten Vergleich der drei Elektroden.

b) Meßgut:

b_1) wässrige Lösungen:
Die zur Elektrodentestung verwendeten wässrigen Lösungen dienten gleichzeitig als Eichlösungen

für die anschließend durchgeführten anaeroben Serummessungen und enthielten 1,0, 2,0 und 4,0 mval $CaCl_2$/l bei einem Störionenpegel von 150 mval NaCl/l und 4 mval KCl/l. Die Meßlösungen wurden täglich mit einem Atomabsorptionsspektrophotometer auf ihren Calciumgehalt überprüft. Die Bestimmung der Selektivitätsverhältnisse von Messionen zu Störionen als quantitative Elektrodenkennzahl erfolgte nach dem Prinzip der Veränderungen der Messionenaktivität bei konstant gehaltener Störionenaktivität (47). Die Bestimmung der Aktivitätskoeffizienten erfolgte nach der Debye-Hückel-Theorie unter Verwendung der Kiellandschen Formel.

b_2) Serum:

Von liegenden nüchternen Probanden im Alter von 18 bis 40 Jahren, bei denen Gesamteiweiß, Albumin und Blutgase im Normbereich lagen, wurde aus der ungestauten Cubitalvene Blut entnommen. Blutentnahme und Probenaufbereitung erfolgte mit Hilfe der Monovettentechnik (28). Elektrodeneichung, Messung und Auswertung der Meßergebnisse wurden wie in Kap. IV, 1c beschrieben, durchgeführt. Gesamtcalcium wurde mittels Atomabsorptionsspektrophotometrie (Beckman) bestimmt.

2 Ergebnisse:

Die Selektivitätsverhältnisse der drei untersuchten Kunststoffe sind in Tab. 1 dargestellt. Bei pH 2,3 ergab sich eine Empfindlichkeit der elektrisch geladenen Liganden für Protonen von ca. 400 - 650 zu 1 gegenüber Calciumionen. Der elektrisch neutrale Carrier hingegen wies gegenüber H^+-Ionen lediglich eine Querempfindlichkeit von weniger als 10^{-6} auf. Ein ähnlich günstiges Verhalten zeigt der Carrier bezüglich der Diskriminierung von NH_4^+-Ionen (Querempfindlichkeit 10^{-6}) im Gegensatz zu den elektrisch geladenen Liganden (Querempfindlichkeit $3,5 \times 10^{-2}$ bzw. $3,06 \times 10^{-2}$).

K_{Ca-S}	Membrankomponenten der calciumselektiven Kunststoffe		
	Synthetischer, elektrisch neutraler Ca^{++}-Carrier (2) Na-TPB, o-NPOE, PVC, Cyclohexanon	Ca-Salz der Didecylphosphorsäure in Diocytylphenylphosphonat (42) PVC, Cyclohexanon	Orion-Nr. 98-20-02 PVC, Cyclohexanon
H^+	10^{-6} (pH 2,30)	$6{,}50 \times 10^{2}$ (pH 2,30)	$3{,}99 \times 10^{2}$ (pH 2,30)
Na^+	$2{,}20 \times 10^{-4}$	$9{,}50 \times 10^{-3}$	$5{,}63 \times 10^{-3}$
K^+	$5{,}00 \times 10^{-4}$	$3{,}00 \times 10^{-4}$	$2{,}00 \times 10^{-4}$
NH_4^{++}	10^{-6}	$3{,}50 \times 10^{-2}$	$3{,}06 \times 10^{-2}$
Mg^{++}	$5{,}10 \times 10^{-4}$	$1{,}80 \times 10^{-3}$	$5{,}40 \times 10^{-4}$
Ca^{++}	1,00	1,00	1,00
Literatur	(43)	(46, 43)	(50)
Membrantyp	I	II	III

K_{Ca-S} Selektivitätsverhältnis Ca^{++}-Störion

Na-TPB Na-Tetraphenylborat

o-NPOE o-Nitrophenyloctyläther

PVC Polyvinylchlorid

Tabelle 1: Selektivitätsverhältnis als quantitative Elektrodenkennzahlen der calciumselektiven Kunststoffe (27)

	Membrantyp		
	I	II	III
Meßgenauigkeit in wäßriger Lösung	0,1 mV	0,25 mV	0,1 mV
Analysenfehler in wäßriger Lösung	0,8 %	2,0 %	0,8 %
Meßgenauigkeit im Serum	0,1 mV	0,5 mV	0,4 mV
Analysenfehler im Serum	0,8 %	4,0 %	3,2 %

Meßgenauigkeit $\pm$ mV

Analysenfehler $\pm$ %

Tabelle 2: Analysenfehler in Seren und wäßrigen Elektrolytlösungen (27)

Meßgenauigkeit und Analysenfehler bei Messung in wässrigen Lösungen sind in Tab. 2 dargestellt. Carrier und Membrantyp III weisen hier gleiche Leistungsfähigkeit auf. Bei anaeroben Serummessungen hingegen finden sich für den Carrier eine erheblich größere Meßgenauigkeit, sowie ein geringerer Analysenfehler im Vergleich zu den elektrisch geladenen Liganden. Die im Serum gemessenen Werte für ionisiertes Calcium lagen für den Carrier mit 2,62 mval/l im Mittel um 0,05 bzw. 0,13 mval/l höher als bei den geladenen Liganden (Tab. 3).

3 Diskussion:

Der Vergleich der drei calciumselektiven Disk-Elektroden ergab deutliche Vorteile für den elektrisch neutralen Modellcarrier hinsichtlich Selektivität, Meßwertstabilität und Reproduzierbarkeit bei zwei aufeinanderfolgenden Serummessungen mit dazwischenliegender Eichung im wässrigen Medium. Die im Serum gemessenen Werte lagen im Mittel für den neutralen Carrier mit 2,62 mval/l um 0,05 bzw. um 0,13 mval/l etwas höher als die der geladenen Liganden. Das hohe Diskriminierungsvermögen des neutralen Carriers für Protonen erlaubt Messungen in Körperflüssigkeiten mit signifikanten pH-Schwankungen wie Speichel, Urin und Pankreassaft. Weiterhin kann im Gegensatz zu elektrisch geladenen Liganden auf eine Pufferung der Eichlösung auf pH 7,3 verzichtet werden.

	Membrantyp		
	I	II	III
Ca_{tot}	$Ca_{ion.}$	$Ca_{ion.}$	$Ca_{ion.}$
4,70	2,75 (58,51 %)	2,70 (57,45 %)	2,70 (57,45 %)
4,80	2,80 (58,33 %)	2,75 (57,29 %)	2,75 (57,29 %)
5,24	2,80 (53,44 %)	2,70 (51,53 %)	2,70 (51,53 %)
4,66	2,60 (55,79 %)	2,35 (50,43 %)	2,55 (54,72 %)
4,90	2,70 (55,10 %)	2,52 (51,43 %)	2,60 (53,06 %)
4,60	2,50 (54,34 %)	2,45 (53,26 %)	2,45 (53,26 %)
5,10	2,55 (50,00 %)	2,30 (45,10 %)	2,50 (49,02 %)
4,56	2,45 (53,73 %)	2,25 (49,34 %)	2,45 (53,73 %)
4,41	2,25 (51,02 %)	2,20 (49,89 %)	2,30 (52,15 %)
5,10	2,75 (53,92 %)	2,65 (51,96 %)	2,70 (52,94 %)
x4,81	2,62 (54,42 %)	2,49 (51,77 %)	2,57 (53,52 %)
s0,27	0,18 (2,73 %)	0,21 (3,67 %)	0,15 (2,54 %)

Tabelle 3: Simultane Messung des ionisierten Calciums mit drei verschiedenen calciumselektiven Disk-Elektroden in anaerob aufbereiteten Serumproben von 10 Probanden (mval/l) (27)

IV Die Bestimmung des ionisierten Calciums im menschlichen Serum (25)

Die Bestimmung des ionisierten Serumcalciums muß unter streng anaeroben Bedingungen erfolgen. Diese Voraussetzung gilt ebenso für Probengewinnung, -aufbereitung und -lagerung. Wird diese Tatsache nicht berücksichtigt, treten unweigerlich CO_2-Verluste auf, die eine pH-Zunahme zur Folge haben. Infolge der Abnahme der Protonenaktivität entstehen an den Serumproteinen (insbesondere Albumin) freie Valenzen, die mit Calciumionen abgesättigt werden, was eine Abnahme der ionisierten Fraktion zur Folge hat (wie zum Beispiel bei der Hyperventilationstetanie). Zur Ausschaltung dieser Fehlermöglichkeit wurden bisher zwei Methoden, die Vacutainertechnik (12, 10, 34) und die Paraffinöltechnik (14), eingeführt. Beide Methoden sind jedoch mit einem erheblichen Arbeitsaufwand und Materialaufwand verbunden. Daher wurde für die im folgenden beschriebenen Serummessungen eine neue Methode, die Monovettentechnik, entwickelt und eingesetzt.

1 Methodik:

a) Meßgut:
Im Serum von 25 gesunden männlichen Studenten im Alter von 18 bis 32 Jahren wurden ionisiertes Calcium und Blutgase unmittelbar nach der Entnahme bestimmt. 4 Proben wurden bei 4 °C gelagert und die obigen Parameter nach 1, 3, 6 und 24 Stunden gemessen.

b) Labormethoden:
Ionisiertes Calcium wurde mittels des elektrochemischen Multimeßsystems und calciumselektiven Disk-Elektroden bestimmt. Gesamtcalcium wurde mit Hilfe des Atomabsorptionsspektrophotometers (Beckman), pH und pCO_2 mit dem AVL Gas Check bestimmt.

c) Probenentnahme, Aufbereitung und Lagerung mit Hilfe der Monovettentechnik: (Abb. 3)
Hierbei erfolgte die Blutentnahme mit zusatzfreien Serummonovetten^R (Sarstedt) am liegenden, nüchternen Patienten aus der ungestauten Cubitalvene. Das Tot-

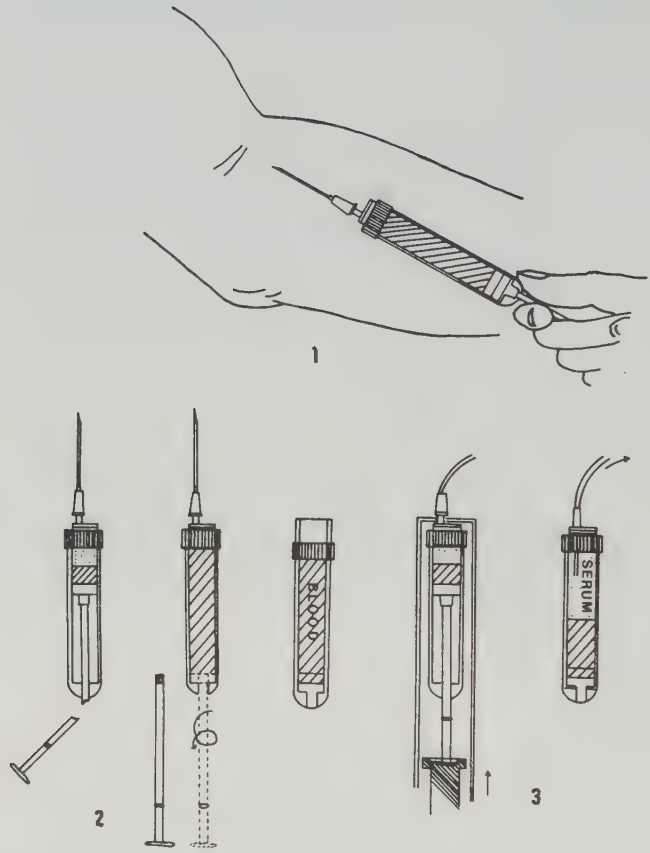


Abb. 3: Die Probenentnahme und Aufbereitung mit Hilfe der Monovettentechnik

raumvolumen der benutzten Monovetten wird zuvor auf 2 - 3 % vermindert und mit N_2O gefüllt. Nachdem die Monovette vollkommen gefüllt ist, wird der Spritzenstempelgriff herausgeschraubt, wobei ein Zentrifugenröhrchen entsteht, das mit einer zugehörigen Kunststoffkappe verschlossen wird. In diesem Gefäß kann die Probe nun gelagert oder zentrifugiert werden. Ist die Monovette nur teilweise gefüllt (Mindestprobenmenge 1 ml Vollblut), wird der Spritzenstempelgriff abgebrochen. Nachdem sich der Blutkuchen abgesetzt hat, wird die Probe bei 5000 Upm zentrifugiert und anschließend auf Raumtemperatur erwärmt. Anschließend wird der Serumüberstand mit einer nachgeschalteten Rollerpumpe direkt aus der Monovette in die Meßkammer gesaugt, oder unter Benutzung einer Spritzenpumpe in das Meßsystem gepumpt.

d) Elektrodeneichung und Messung:

Die Disk-Elektrode wird mit wässrigen Lösungen, die 1,0, 2,0 und 4,0 mval/l $CaCl_2$/l enthalten, geeicht. Nach Anpassung an die totale Ionenstärke des Serums werden den Standards jeweils 150 mval/l NaCl, 4 mval/l KCl und 0,9 mval/l $MgCl_2$/l zugesetzt. Eine Pufferung der Eichlösungen mit Triäthanolamin auf pH 7,3, die bei Verwendung von geladenen Liganden als aktive Elektrodenphasen notwendig wird, erweist sich aufgrund der weitgehenden pH-Unabhängigkeit des Calciumcarriers als überflüssig. Der Zusatz von Trypsin zu den Eichlösungen, im Sinne einer Anpassung an den Proteingehalt der Meßlösung, der nach Ansicht verschiedener Autoren die Elektrodeneinstellzeit verkürzen soll, erscheint aus verschiedenen Gründen nicht sinnvoll:

Zum einen vermögen einzelne Trypsinchargen in unterschiedlichem Maße Calciumionen zu binden, so daß vor ihrer Verwendung die Calciumionenbindungskapazität bestimmt werden muß. Zum anderen müssen die Standards an jedem Arbeitstag neu angesetzt werden, da sich die Ca^{++}-Aktivität in Trypsinlösungen inner-

halb von 24 bis 48 Stunden erheblich verändert (53). Zudem ist die Einstellzeit der Carriermembran-Disk-Elektrode unter Impedanzwandlung mit 3 - 5 Sekunden relativ kurz, so daß eine weitere Verkürzung durch Inkaufnahme eines erhöhten Arbeitsaufwandes und des Risikos eines zusätzlich möglichen Meßfehlers nicht sinnvoll erscheint. Die Eichlösungen sollten an jedem Meßtag mit dem Atomabsorptionsspektrophotometer auf ihren Calciumgehalt überprüft werden.
Mindestens 2 Stunden vor Meßbeginn wird die Elektrode mit 10^{-1}m Calciumchloridlösung vorperfundiert. Danach werden die Standards in der Reihenfolge 1,0, 2,0 und 4,0 mval/l $CaCl_2$/l so lange durchgemessen, bis die erhaltenen Werte auf 0,1 mV reproduzierbar sind und eine Eichkurve erstellt. Die Elektrodensteilheit sollte für die Carriermembran-Disk-Elektrode nicht unter 24 mV pro Dekade liegen.
Die Standardlösungen werden wie die Proben auf Raumtemperatur erwärmt und aus Monovetten heraus gemessen, um möglichst gleiche Voraussetzungen zu schaffen. Anschließend erfolgt die "Anpassung" der Elektrode an Serumverhältnisse. Dies geschieht im wiederholten Durchlauf eines Poolserums im Wechsel mit dem 2 mval/l-Standard. Nachdem sich die Meßwerte erneut auf 0,1 mV reproduzieren lassen, kann mit der Probenbestimmung begonnen werden. Obwohl mit der Disk-Elektrode bis zu 5 Proben hintereinander ohne signifikanten Meßfehler gemessen werden können, empfiehlt es sich, nach jeder Messung zwischenzueichen. Der Meßwert wird dann abgelesen, wenn die Potentialanzeige des Digitalelektrometers stabil ist. Die Erkennung dieses für die Analysengenauigkeit wesentlichen Zeitpunktes läßt sich durch Anschluß eines Analogschreibers an das Elektrometer wesentlich erleichtern. Durch diese Maßnahme lassen sich zudem Störfaktoren, die während der Messungen auftreten können, wie Elektrodendrift, Kurzschlüsse, elektrostatische Aufladungen und Meßkabel- und Steckerdefekte leichter erkennen und interpretieren (47). Die ge-

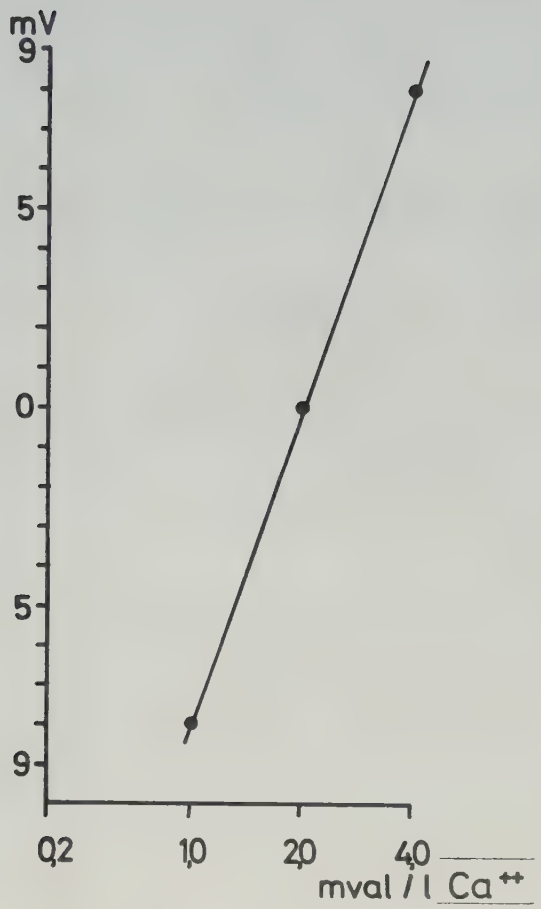


Abb. 4: Semilogarithmische Standardkurve zur Transformation der Meßpotentiale in Ca^{++}-Aktivität

messenen Potentialdifferenzen werden mit Hilfe der erstellten halblogarithmischen Eichkurve (Abb. 4) in Calciumionenaktivität transformiert. Als Alternative bietet sich die mathematische Auswertung nach folgender Formel an:

E = Potentialdifferenz der Eichlösung a
E = Potentialdifferenz der Eichlösung a - Probe

$$\text{Steilheit } S = \frac{E}{\lg \frac{\text{Eichlösung a}}{\text{Eichlösung b}}}$$

Konzentration des Ions in der Probe:

$$C_{Ion} = \frac{\text{Eichlösung a}}{10^{\frac{E}{S}}}$$

2 Ergebnisse:

Die Meßergebnisse für ionisiertes Calcium und Totalcalcium können aus Tab. 4 entnommen werden. In Tab. 5 wird das Verhalten von ionisiertem Calcium, pH und pCO_2 in 4 Serumproben nach einer Lagerzeit von 1, 3, 6 und 24 Stunden bei 4 °C gezeigt. Die durchschnittliche Anzeigegeschwindigkeit der Elektrode lag bei 3 - 5 sec/Messung. Die durchschnittliche Elektrodensteilheit lag bei 26 mV/Dekade. Die Meßwerte konnten auf $\pm$ 0,1 mV reproduziert werden. Für eine Serumanalyse war ein Probenvolumen von ca. 30 µl notwendig.

3 Diskussion:

Calciumselektive Disk-Elektroden ermöglichen im Zusammenhang mit der Monovettentechnik eine exakte, unproblematische Bestimmung des ionisierten Serumcalciums. Die Monovettentechnik erlaubt es, alle Arbeitsgänge von Entnahme bis Messung im gleichen Probenbehälter durchzuführen. Dadurch werden Arbeits- und Materialaufwand verringert und das Risiko eines Gasverlustes durch Um-

	Ca^{++} (mval/l)	Ca_{tot} (mval/l)	$\frac{Ca^{++}}{Ca_{tot}} \times 100$ (%)
	2,55	4,58	55,67
	2,23	5,01	43,98
	2,65	4,60	57,60
	2,75	4,70	58,51
	2,45	4,56	53,73
	2,82	5,24	53,48
	2,75	5,10	53,92
	2,80	4,80	58,33
	2,68	4,66	55,81
	2,70	4,90	55,10
	2,54	4,60	54,38
	2,55	5,10	55,00
	2,54	4,70	52,13
	2,64	4,60	56,58
	2,40	4,76	50,42
	2,30	4,71	48,83
	2,43	5,22	46,55
	2,20	4,50	48,89
	2,30	4,41	52,15
	2,45	4,50	55,68
	2,55	4,95	51,51
	2,38	4,92	48,37
	2,82	4,45	63,37
	2,35	4,61	50,98
	2,46	4,73	52,01
$\bar{X}$	2,53	4,76	53,32
SD	0,19	0,24	4,21
S.E.M.	0,037	0,048	0,84

Tabelle 4: Ionisiertes Calcium im Serum von 25 männlichen Normalpersonen

		nach Blutabnahme	1 h	3 h	6 h	24 h
pH	1	7,44	7,48	7,46	7,40	7,36
	2	7,38	7,40	7,42	7,40	7,37
	3	7,40	7,44	7,45	7,45	7,42
	4	7,45	7,43	7,48	7,44	7,39
	x	7,41	7,44	7,45	7,42	7,33
	S.D.	0,033	0,033	0,025	0,026	0,026
	S.E.M.	0,016	0,016	0,012	0,013	0,013
pCO_2	1	35,3	33,8	35,0	34,9	35,0
	2	37,0	36,2	36,0	33,9	34,2
	3	38,3	38,2	37,9	36,0	36,2
	4	36,0	36,2	35,6	35,5	35,2
	x	36,65	36,10	36,12	35,07	35,15
	S.D.	1,30	1,8	1,25	0,90	0,82
	S.E.M.	0,65	0,9	0,63	0,45	0,41
Ca^{++}	1	2,44	2,42	2,40	2,44	2,46
	2	2,52	2,48	2,55	2,54	2,55
	3	2,46	2,46	2,44	2,45	2,50
	4	2,40	2,40	2,38	2,40	2,42
	x	2,45	2,44	2,43	2,45	2,48
	S.D.	0,05	0,036	0,053	0,06	0,06
	S.E.M.	0,025	0,018	0,026	0,03	0,03

Tabelle 5: Ergebnisse eines Lagerungsversuches mit Serummonovetten bei 4 °C.
In Serumproben von 4 männlichen Normalpersonen wurden pH, pCO_2 und Ca^{++} sofort, 1, 3, 6 und 24 Stunden nach Blutentnahme bestimmt.

füllen der Proben beseitigt. Für eine Serummessung müssen lediglich 1 - 2 ml Vollblut entnommen werden. Daher eignet sich die Monovettentechnik nicht nur für den Einsatz bei Patienten, sondern auch für experimentelle Studien an kleinen Versuchstieren. Zudem ist bei Einsatz dieser Methode keine sofortige Bestimmung des ionisierten Serumcalciums notwendig, sondern eine Lagerung bei 4 ^{o}C über 24 Stunden ohne signifikante Änderung der Ca^{++}-Aktivität möglich. Es kommt zwar nach 6 Stunden zu geringfügigen CO_2-Verlusten, jedoch zeigt der pH-Wert keine signifikanten Veränderungen. Dieser Effekt dürfte wahrscheinlich auf infolge des anaeroben Erythrozytenstoffwechsels produzierte saure Stoffwechselprodukte zurückzuführen sein.
Der synthetische Carrier in Verbindung mit der völlig neuartigen Technologie der Disk-Elektrode und des elektrochemischen Multimeßsystems ermöglicht eine hohe Meßgenauigkeit und Anzeigegeschwindigkeit bei kleiner Probenmenge. Durch die weitgehende pH-Unabhängigkeit des Calciumcarriers und die hohe Anzeigegeschwindigkeit der Elektroden erübrigen sich die Pufferung der Eichlösung mit Triäthanolamin sowie der Zusatz von Trypsin. Die im Serum gemessenen Ca^{++}-Konzentrationen liegen geringfügig höher als die von anderen Autoren erhobenen Werte (Tab. 6). Die Ursache hierfür ist möglicherweise auf methodische Unterschiede insbesondere im Hinblick auf den Meßkettenaufbau und die Probenaufbereitung zurückzuführen.

Autor	Ca^{++} mval/l				Elektrodentyp	Meßgut
	n	x	s_x	v		
Oreskes et al. (33)	50	2,32	0,22	9,5	Static-electrode +	Plasma
Hattner et al. (14)	23	1,97	0,08	4,0	flow-through-electrode •	Serum
Raman (36)	17	2,36	0,30	12,7	flow-through-electrode	Serum
Seamonds et al. (51)	84	2,16	0,12	5,6	flow-through-electrode	Serum
Fuchs et al. (12)	81	2,43	0,09	3,8	flow-through-electrode	Serum
Moore (32)	19	2,33	0,06	2,6	flow-through-electrode	Serum
Paschen (34)	112	2,44	0,10	4,0	flow-through-electrode	Serum
Arnold (3)	27	2,53	0,32	12,6	static-electrode	Serum

• Durchflußelektrode + Eintauchelektrode

Tabelle 6: Von anderen Autoren beschriebene Ca^{++}-Konzentrationen im menschlichen Serum bzw. Plasma

V Die Bestimmung des ionisierten Calciums im Vollblut

Die Messung des ionisierten Calciums im Vollblut unterscheidet sich von der im Serum lediglich bezüglich der Probenentnahme und Aufbereitung, worauf im folgenden eingegangen wird.

1 Methodik:

a) Meßgut:
Im arteriellen Blut von 21 mit einer Standarddiät ernährten Hausschweinen (large white X land race) wurde ionisiertes Calcium und Totalcalcium bestimmt.

b) Probenentnahme, Aufbereitung und Messung:
Die Blutentnahme erfolgte über einen in der Arteria femoralis plazierten, mit einem Dreiwegehahn versehenen Polyäthylenkatheter. Direkt an das Hahnsystem wurde über eine Blutentnahmekanüle ein heparinisierter 5 ml-Vacutainer ^{R} (Heparingehalt 70 I.E. Heparin) angeschlossen, in dem die Probe gesammelt wurde. Nach der Entnahme wurden zur Ca^{++}-Bestimmung 0,5 ml Vollblut mit Hilfe einer 1 ml-Spritze aus dem Vacutainer entnommen und direkt in das Multimeßsystem gesaugt.
Der Einfluß unterschiedlicher Heparinkonzentrationen auf das ionisierte Calcium im Vollblut wurde an 7 vom gleichen Versuchstier entnommenen Blutproben, die mit 4, 6, 10, 15, 20, 30 und 40 I.E. Heparin/ml versetzt wurden, untersucht (Tab. 7).
Elektrodeneichung und Messung erfolgten wie in Kap. IV, 1 c beschrieben.
Gesamtcalcium wurde mittels Atomabsorptionsspektrophotometrie (Beckman) bestimmt.

2 Ergebnisse:

Die Konzentrationen des ionisierten Calciums im heparinisierten Schweineblut können aus Tab. 8 entnommen werden. Bis zu einer Konzentration von 20 I.E. Heparin/ml Vollblut fand sich keine Beeinflussung der Calciumionenkonzentration. Bei Zusatz von 30 bzw. 40 I.E. Heparin/ml Vollblut kam es zu einem Abfall des Ca^{++} von 2,64 auf 2,52 bzw. 2,38 mval/l. Hinsichtlich Reproduzierbarkeit

Ca^{++}-Konzentration im Vollblut	Heparindosis
2,66 mval/l	4 I.E./ml
2,62 mval/l	6 I.E./ml
2,66 mval/l	10 I.E./ml
2,64 mval/l	15 I.E./ml
2,64 mval/l	20 I.E./ml
2,52 mval/l	30 I.E./ml
2,38 mval/l	40 I.E./ml

Tabelle 7: Der Einfluß unterschiedlicher Heparindosen auf das Verhalten des ionisierten Calciums im Vollblut

	Ca^{++} (mval/l)	Ca_{tot} (mval/l)
	0,143	0,8
	0,155	0,6
	0,048	0,4
	0,053	2,0
	0,065	2,3
	0,102	1,0
	0,09	2,0
	0,076	2,0
	0,106	1,9
	0,183	0,4
	0,15	0,5
	0,158	0,5
	0,049	0,5
	0,033	1,2
	0,047	0,6
	0,176	1,6
	0,045	0,4
	0,043	2,0
	0,212	1,2
	0,155	1,0
	0,102	0,7
X	0,103	1,12
S.D.	0,06	0,67
S.E.M.	0,01	0,15

Tabelle 8: Ionisiertes Calcium und Gesamtcalcium im Urin von 21 männlichen Schweinen

der Ergebnisse, Analysenfehler und Meßgeschwindigkeit ergaben sich im Vergleich zu den Serummessungen keine signifikanten Unterschiede.

3 Diskussion:

Ähnlich wie bei Serummessungen weist die Disk-Elektrode bei der Bestimmung des ionisierten Calciums im heparinisierten Vollblut hervorragende Eigenschaften bezüglich Meßgenauigkeit und Meßgeschwindigkeit auf. Die gemessenen Ca^{++}-Werte liegen mit 2,72 $\pm$ 0,028 mval/l geringfügig höher als die im menschlichen Serum erhobenen Werte. Ähnliche Untersuchungen im Schweinevollblut liegen bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht vor, so daß ein unmittelbarer Vergleich nicht möglich ist. Die Heparinisierung der Proben ist zur Vermeidung von Gerinnungsvorgängen innerhalb des Meßsystems unumgänglich. Hierbei sollte jedoch der Heparingehalt der Probe nicht mehr als 20 I.E./ml betragen, zumal bei höheren Konzentrationen ein bisher nicht erklärbarer Abfall des ionisierten Calciums auftritt.

VI Die Bestimmung des ionisierten Calciums im Parotisspeichel und Urin

Wie bereits in den vorausgegangenen Kapiteln erwähnt, liegt mit der Carriermembran-Disk-Elektrode erstmals eine calciumselektive Elektrode vor, die Messungen in Körperflüssigkeiten mit ausgedehnten pH-Schwankungen erlaubt. Weiterhin erfordert diese Meßanordnung lediglich ein sehr geringes Probenvolumen, eine Voraussetzung, die zum Beispiel für Speichelanalysen unabdingbar ist. Im folgenden wird eine Versuchsanordnung zur Bestimmung des ionisierten Calciums im menschlichen Parotisspeichel und im Urin des Hausschweines beschrieben.

1 Ionisiertes Calcium im Parotisspeichel (22, 23, 24, 25, 26)

a) Methodik:

a_1) Meßgut:

Im Parotisspeichel von 5 klinisch gesunden Studenten im Alter von 20 bis 25 Jahren wurden ionisiertes Calcium und Gesamtcalcium bestimmt.

a_2) Probengewinnung, Aufbereitung und Messung:

Die Untersuchungen wurden morgens zwischen 8 und 10 Uhr durchgeführt. Hierbei waren die Probanden nüchtern und saßen mit leicht nach hinten geneigtem Oberkörper auf einem zahnärztlichen Untersuchungsstuhl. Der Speichelfluß wurde durch eine Pilocarpin-Injektion (0,015 mg/kg Körpergewicht s. c.) stimuliert. Zur Speichelkollektion wurde die Methode nach Kreusser et al. (19) in modifizierter Form eingesetzt: hierbei wird die Parotis mittels eines speziell geformten Polyäthylenkatheters 2 - 2,5 cm tief kanüliert. An das Katheterende wird eine geeichte, auswechselbare Pipette angeschlossen. Mittels eines vorgeschalteten Dreiwegehahnes und Einmalspritzen werden die Proben entnommen, in Vacutainer® gefüllt und sofort nach Versuchsende analysiert. Um eine anaerobe Entnahme zu gewährleisten, wird das Sammelsystem

mit N_2O gefüllt.
Das ionisierte Calcium wurde mit Hilfe calciumselektiver Disk-Elektroden und einer verkleinerten Version des elektrochemischen Multimeßsystems bestimmt. Die Eichung der Elektrode erfolgte mit Standardlösungen, die 0,5, 1,0, 2,0 und 4,0 mval/l $CaCl_2$/l enthielten. Zur näherungsweisen Anpassung an die totale Ionenstärke im Parotisspeichel wurden den Standards 40 mval NaCl/l und 14 mval KCl/l zugesetzt.
Eine exakte Anpassung ist infolge flußratenabhängiger, starker Schwankungen im Ausscheidungsmuster der Speichelelektrolyte nahezu unmöglich und aufgrund der hohen Calciumselektivität des Carriers nicht erforderlich. Das Gesamtcalcium wurde mittels Atomabsorptionsspektrophotometrie bestimmt. Die Konzentrationen des ionisierten Calciums im menschlichen Parotisspeichel innerhalb des Flußratenbereiches von 0,6 - 1,1 ml/min. sind in Tab. 9 dargestellt und betrugen im Mittel 1,73 $\pm$ 0,05 mval/l, die des Totalcalciums 3,53 $\pm$ 0,05 mval/l. Der Analysenfehler des Elektrodenmeßsystems lag bei 0,8 %; für eine Messung war ein Mindestprobenvolumen von 80 - 100 µl erforderlich. Die Elektrodeneinstellzeit betrug 40 - 50 sec.

2 Ionisiertes Calcium im Urin

a) Methodik:

a_1) Meßgut:
Im Urin von 7,20 - 25 kg schweren, mit einer Standarddiät ernährten Schweinen (large white X land race) wurden ionisiertes Calcium und Totalcalcium bestimmt.

a_2) Probengewinnung, Aufbereitung und Messung:
Die Urinproben wurden über Uretherenkatheter, die zwei Tage vor Versuchsbeginn implantiert wurden, fraktioniert gesammelt. Unmittelbar nach der Entnahme erfolgte die Bestimmung von ionisiertem Cal-

	Ca^{++} (mval/l)	Ca_{tot} (mval/l)
	1,43	3,39
	1,46	3,35
	1,64	3,58
	1,62	3,68
	1,84	3,50
	1,85	3,92
	1,82	3,52
	1,94	3,30
	1,96	3,44
	1,60	3,61
	1,72	3,47
	1,85	3,56
	1,73	3,55
X	1,73	3,53
S.D.	0,17	0,16
S.E.M.	0,05	0,05

Tabelle 9: Die Konzentration des ionisierten Calciums im Parotisspeichel von 5 männlichen Normalpersonen (Flußratenbereich 0,6 - 1,1 ml/min)

cium und Totalcalcium. Zur Elektrodeneichung wurden Standardlösungen verwendet, die 0,1, 0,2 und 0,4 mval/l $CaCl_2$/l enthielten und durch den Zusatz von 20 mval NaCl/l und 6o mval KCl/l an die totale Ionenstärke im Schweineurin adaptiert wurden.

b) Ergebnisse:

Die im Schweineurin gemessenen Werte für ionisiertes Calcium und Totalcalcium betrugen im Mittel 0,206 ± 0,02 mval/l bzw. 2,24 ± 0,3 mval/l. Der Analysenfehler bei diesen Messungen lag bei 1,5 %. Für eine Einzelmessung war ein Mindestprobenvolumen von 80 - 100 µl erforderlich. Die Elektrodeneinstellzeit betrug 50 - 80 sec.

3 Diskussion:

Mit der beschriebenen Versuchsanordnung wurde erstmals die elektroanalytische Bestimmung des ionisierten Calciums im Parotisspeichel und im Urin ermöglicht. In beiden Fällen ist aufgrund starker Schwankungen der Elektrolytkomposition eine exakte Anpassung der totalen Ionenstärke der Eichlösungen an die der Proben nur in Grenzen möglich. Der theoretisch daraus resultierende Meßfehler ist jedoch infolge der hohen Selektivität des Calciumcarriers vernachlässigbar klein. Die Meßdauer ist gegenüber Serum- und Vollblutmessungen erheblich verlängert, ein Phänomen, das sich zum jetzigen Zeitpunkt nicht hinreichend erklären läßt. Da es sich bei dem Multimeßsystem um ein Durchflußsystem handelt, resultiert aus der verlängerten Meßdauer eine Steigerung des Mindestprobenvolumens auf 80 - 100 µl pro Messung.

VII Die flußratenabhängige Bestimmung von ionisiertem Calcium und Gesamtcalcium im Parotisspeichel von Normalpersonen und Patienten mit essentieller Hypertonie (24, 25)

Die Kenntnis des Ausscheidungsmusters der Elektrolyte im Parotisspeichel ermöglicht Einblicke in aktive Transportvorgänge eines hochdifferenzierten Drüsenepithels. Während inzwischen zahlreiche Befunde über das flußratenabhängige Ausscheidungsmuster von Na^+, K^+ und Gesamtcalcium unter normalen und krankhaften Bedingungen vorliegen (15, 16, 17), sind unsere Kenntnisse über das Verhalten der ionisierten Calciumfraktion aus den in Kap. I geschilderten Gründen noch lückenhaft. In den nachfolgenden Untersuchungen wurde das Verhalten des ionisierten Calciums und Totalcalciums im Parotisspeichel von Normalpersonen und Hypertonikern in Abhängigkeit von der Flußrate untersucht.

1 Methodik:

Im Parotisspeichel von 9 männlichen Patienten (Alter 16 bis 30 Jahre) mit essentieller Hypertonie und 10 klinisch gesunden Freiwilligen (Alter 20 - 26 Jahre) wurden ionisiertes Calcium und Totalcalcium bestimmt. Speichelkollektion- und Aufbereitung, sowie die Bestimmung von ionisiertem Calcium und Totalcalcium erfolgten wie in Kap. VI, 2 beschrieben.

2 Ergebnisse:

Die Konzentrationen von ionisiertem Calcium und Totalcalcium bei Hypertonikern und Normalpersonen sind in Abb. 5 dargestellt. Im niedrigen Flußratenbereich lag die Gesamtcalciumkonzentration im Speichel von Patienten mit essentieller Hypertonie ($3{,}3 \pm 0{,}42$ mval/l) signifikant höher ($p < 0{,}01$) als im Normalkollektiv ($1{,}96 \pm 0{,}26$ mval/l). In beiden Kollektiven fand sich mit zunehmender Flußrate (von 0,1 - 1,0 ml/min.) ein Anstieg der Gesamtcalciumkonzentration mit anschließender Ausbildung eines Plateaus. Nahezu über den gesamten untersuchten Flußratenbereich lag die Gesamtcalciumkonzentration im Parotisspeichel des Patientenkollektivs signifikant höher als im Normalkollektiv.

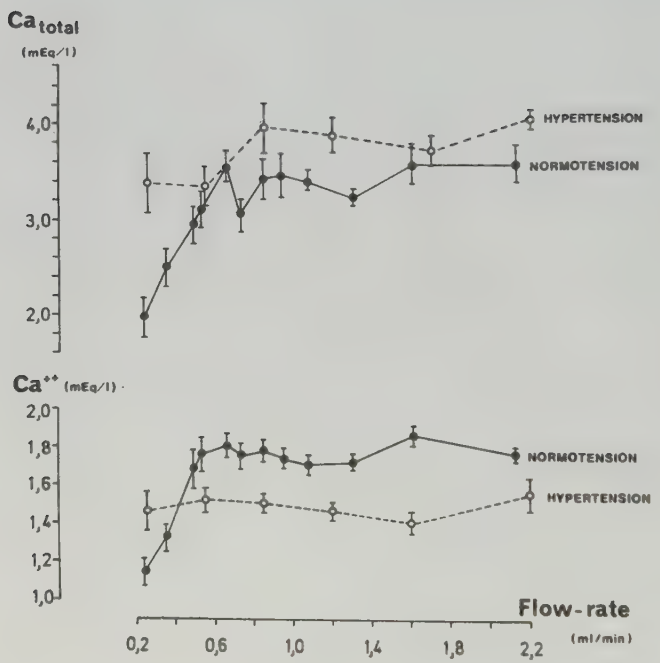


Abb. 5: Die flußratenabhängige Ausscheidung von Ca^{++} und Ca_{tot} im Parotisspeichel von Normalpersonen und Patienten mit essentieller Hypertonie

Die Konzentration des ionisierten Calciums im Patientenkollektiv war lediglich im Flußratenbereich unter 0,3 ml/min. im Vergleich zu dem Normalkollektiv signifikant erhöht (1,42 ± 0,07 mval/l gegenüber 1,13 ± 0,11 mval/l; $p < 0,01$). Bei Flußraten über 0,6 ml/min. hingegen fanden sich im Patientenkollektiv signifikant niedrigere Werte ($p < 0,01$). Dieses Phänomen resultiert aus dem in beiden Kollektiven unterschiedlichen Verhalten des ionisierten Calciums in Abhängigkeit von der Flußrate. Während es im Normalkollektiv im Flußratenbereich von 0,2 - 0,6 ml/min. zu einem signifikanten Anstieg kam, konnte bei dem Hypertonikerkollektiv keine Beeinflussung der ionisierten Calciumkonzentration im Parotisspeichel in Abhängigkeit von der Flußrate nachgewiesen werden. Das Verhältnis Ca^{++} zu Ca_{tot} lag im Hypertonikerkollektiv (0,41 ± 0,04) signifikant niedriger ($p < 0,01$) als bei den Normalpersonen (0,59 ± 0,06).

3 Diskussion:

Ähnlich wie für das Gesamtcalcium konnte auch für die Ausscheidung des ionisierten Calciums im Parotisspeichel eine Abhängigkeit von der Flußrate nachgewiesen werden. Im Parotisspeichel von Patienten mit essentieller Hypertonie fanden sich, abgesehen von dem Flußratenbereich unter 0,3 ml/min. gegenüber dem Normalkollektiv erniedrigte Ca^{++}-Konzentrationen. Für die Erklärung dieses Phänomens existieren verschiedene Möglichkeiten. Zum einen wäre es denkbar, daß Calciumionen mit Anionen schwerlösliche Calciumsalze bilden. Letzteres ist jedoch unwahrscheinlich, zumal das wichtigste komplexbildende Anion im Parotisspeichel, das anorganische Phosphat, gegenüber dem Normalkollektiv keinerlei signifikante Veränderungen zeigte. Weiterhin muß eine verstärkte Reabsorption von Calciumionen im Gangsystem der Drüse diskutiert werden, ein Prozeß, der möglicherweise mit der von Heidland et al. (17) bei arterieller Hypertonie beschriebenen vermehrten Natriumreabsorption in der menschlichen Parotis gekoppelt ist. In diesem Fall müßte man annehmen, daß in der Glandula

parotis des Hypertonikers ein Sekret mit hohem Calciumgehalt gebildet wird und im Verlauf des Drüsengangsystems Calciumionen reabsorbiert werden, ohne daß komplexgebundenes und proteingebundenes Calcium beeinflußt werden. Schließlich könnte die Abnahme der ionisierten Calciumfraktion auf eine vermehrte Proteinbindung zurückzuführen sein, nicht zuletzt zumal im Parotisspeichel von Hypertonikern signifikant erhöhte Proteinkonzentrationen vorliegen. Zur endgültigen Klärung dieser Fragestellung sind jedoch zusätzliche Untersuchungen notwendig.

Es ist vorstellbar, daß die beschriebenen Veränderungen von ionisiertem Calcium und Totalcalcium im Parotisspeichel charakteristisch für die essentielle Hypertonie sind, und unter Umständen interessante Hinweise für die Differentialdiagnostik verschiedener Hochdruckformen geben können.

VIII Die kontinuierliche Messung der Calciumionenaktivität im Vollblut und Pankreassekret

Neben den bereits beschriebenen diskontinuierlichen Messungen erlauben das elektrochemische Multimeßsystem und die Carriermembran-Disk-Elektrode eine fortlaufende Registrierung der Calciumionenkonzentration in den Körperflüssigkeiten. Im folgenden werden Versuchsanordnungen zur kontinuierlichen Calciumbestimmung im Vollblut des Schweines und Pankreassaft des Hundes vorgestellt.

1 Die kontinuierliche Bestimmung des Ca^{++} im Vollblut des Schweines:

a) Versuchsaufbau:

Bei 16 - 18 kg schweren Schweinen (large white X land race) wurde 2 Tage vor Versuchsbeginn ein Femoralisshunt angelegt. Etwa 1,5 Stunden vor Beginn der Untersuchung wurden die wachen Tiere mit Hilfe einer gepolsterten Tragevorrichtung freischwebend innerhalb eines durch Gummiuntersätze isolierten Holzgerüstes fixiert. Um Gerinnungsvorgänge im Meßsystem zu vermeiden, wurden 20 Min. vor Meßbeginn 10.000 E Heparin intravenös gespritzt. Die Elektrodeneichung erfolgte vor und nach Meßbeginn. Hierzu wurden Blutproben von den jeweils untersuchten Versuchstieren entnommen und dann, wie in Kap. IV, 1 c beschrieben, eine Eichung durchgeführt. Nach erfolgter Eichung wurde der zuführende Teil des elektrochemischen Multimeßsystems an den arteriellen Schenkel angeschlossen und nach Passage der Meßkammer über einen PVC-Schlauch in den venösen Schenkel zurückgeleitet. Über die gesamte Versuchsdauer wurde die Elektrodenantwort über ein Digitalelektrometer (DE 751), an das ein Kompensationsschreiber angeschlossen war, registriert. Im Verlauf des Experimentes wurden 10 ml Calciumgluconat (10 %) i.v. gespritzt und die Veränderungen des ionisierten Calciums im Vollblut registriert.

b) Ergebnisse:

In Abb. 6 ist eine mit der obigen Anordnung registrierte Meßkurve dargestellt.
Etwa 2 Min. nach Anschluß des Meßsystems an den Blutkreislauf stabilisierte sich die Disk-Elektrode. Nach der Injektion von 10 ml Calciumgluconat (10 %) zeigte sich erwartungsgemäß ein rascher Anstieg des ionisierten Blutcalciums von 2,63 mval/l auf 3,24 mval/l mit konsekutivem Abfall. Nach etwa 20 Min. war der Ausgangswert wieder erreicht. Bei der anschließend durchgeführten zweiten Eichung fand sich eine vernachlässigbar geringe Elektrodendrift von 0,2 mV.

2 Die kontinuierliche Bestimmung des ionisierten Calciums im Pankreassaft des Hundes (48)

a) Versuchsaufbau:

Als Versuchstiere wurden anästhesierte Hunde verwendet. Über eine permanent implantierte Thomaskanüle wurde unter Sicht ein PVC-Katheter in den Ductus pancreaticus eingeführt. Anschließend wurde die Sekretion von Pankreassaft mit Hilfe einer Sekretin-Infusion stimuliert (1 Klin. E./kg/h) und Pankreassaft für die Elektrodeneichung, die analog zu Kap. VI, 2 durchgeführt wurde, gesammelt. Im Anschluß daran wurde der Katheter über ein Verbindungsstück zur kontinuierlichen Meßwertregistrierung an das elektrochemische Multimeßsystem angeschlossen.
Im Verlauf des Experimentes wurden 2 I.E. Pankreozymin/Kg KG intravenös gespritzt und das Verhalten des ionisierten Calciums im Pankreassekret registriert.

b) Ergebnisse:

1 Min. nach Anschluß des elektrochemischen Multimeßsystems an den Katheter stabilisierte sich die Meßwertanzeige.
20 sec. nach Pankreozymininjektion kam es zu einem steilen Anstieg der Calciumionenkonzentra-

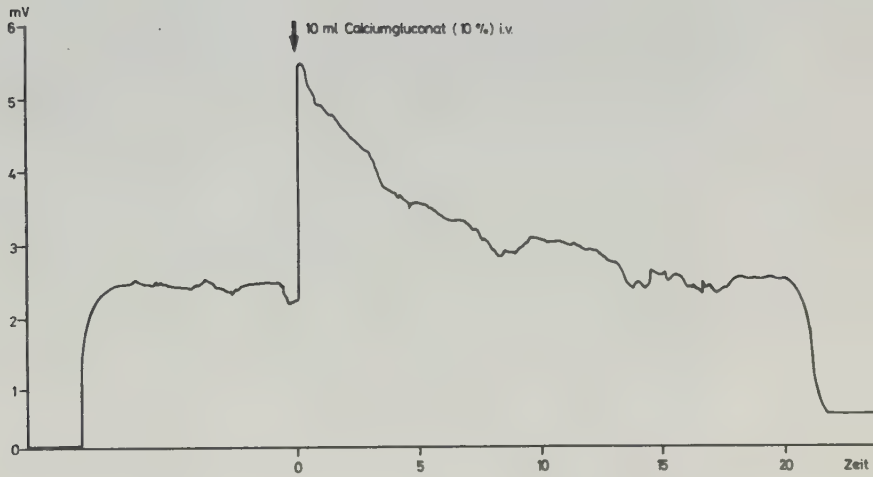


Abb. 6: Kontinuierliche Ca^{++}-Bestimmung im Vollblut des Schweines

tion im Pankreassaft von 0,4 mval/l auf 1,29 mval/l (innerhalb von 10 sec.) mit konsekutivem raschen Abfall (siehe Abb. 7). Eine nach 2 Stunden durchgeführte zweite Eichung ergab keinen Hinweis auf eine Elektrodendrift.

3 Diskussion:

Das elektrochemische Multimeßsystem erlaubt kontinuierliche Meßwertregistrierungen in Pankreassaft und Vollblut über begrenzte Zeitspannen, ohne daß es zu signifikanten Meßwertverschiebungen infolge Elektrodendrift kommt. Hierdurch wird eine lückenlose Erfassung dynamischer, rasch ablaufender Prozesse, wie etwa der durch Pankreozymininjektion initiierte Anstieg des ionisierten Calciums im Pankreassaft ermöglicht. Durch die Integration der Meßkammer in den Blutkreislauf werden Blutverluste und damit verbundene Volumenverschiebungen, die insbesondere bei Experimenten mit kleinen Versuchstieren zu erheblichen Verfälschungen der Versuchsergebnisse führen können, vermieden. Nach der Passage des Meßsystems, während der die Probe keine physikalische oder chemische Veränderung erfährt, ist eine fraktionierte Kollektion bei der kontinuierlichen wie auch bei der diskontinuierlichen Messung möglich.

Erfahrung über kontinuierliche Langzeitmessungen sind Gegenstand derzeitiger Untersuchungen. Insbesondere letzteres dürfte im Hinblick auf den Einsatz ähnlicher, zusätzlich mit natrium- und kaliumselektiven Disk-Elektroden bestückter Meßsysteme im Sinne von Bedside-Analyzern, für die Intensivmedizin von erheblichem Interesse sein.

Wirkung von Pankreozymin auf das freie Ca^{++} im Pankreassaft des Hundes unter Basisstimulation mit Sekretin (Originalregistrierung mit einer calciumselektiven Carrier - Membran - Disk - Elektrode)

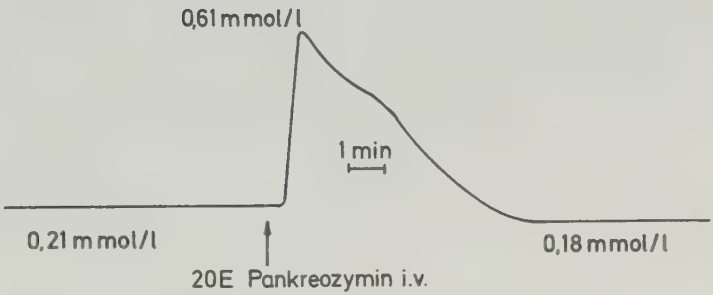


Abb. 7: Beispiele einer kontinuierlichen Messung im Pankreassaft des Hundes

IX Zusammenfassung:

In der vorliegenden Untersuchung wurde eine neuartige, auf dem Prinzip der elektroanalytischen Bestimmung des ionisierten Calciums basierende Technologie, das elektrochemische Multimeßsystem und die calciumselektive Carriermembran-Disk-Elektrode nach Schindler, vorgestellt und erstmals zur Bestimmung der Ca^{++}-Konzentration in Körperflüssigkeiten eingesetzt. Weiterhin wurden methodische Grundlagen zur Probenaufbereitung, Messung der Ca^{++}-Konzentration in Serum, Vollblut, Urin, Parotisspeichel und Pankreassekret erarbeitet:

1 Es konnte gezeigt werden, daß der als aktive Elektrodenphase verwandte, elektrisch neutrale Calciumcarrier vom Dioxakorksäurediamidtyp hinsichtlich Selektivität und Meßgenauigkeit den herkömmlichen elektrisch geladenen Liganden überlegen ist

2 Für die anaerobe Ca^{++}-Bestimmung im Serum wurde eine neue Methode zur Probenaufbereitung, die Monovettentechnik, die gegenüber der Vacutainer- und Paraffinöltechnik Vorteile in Bezug auf Material- und Arbeitsaufwand aufweist, erarbeitet. Die hohe Selektivität des Carriers gegenüber Protonen erlaubte erstmals die Verwendung ungepufferter Eichlösungen. Die Disk-Elektrode zeichnete sich bei Serummessungen durch große Meßgenauigkeit, minimales Probenvolumen und hohe Anzeigegeschwindigkeit aus.

3 Die Bestimmung des Ca^{++} im Vollblut konnte nach dem gleichen Arbeitsschema wie im Serum durchgeführt werden. Zur Vermeidung von Gerinnungsvorgängen war eine Heparinisierung der Blutprobe notwendig. Es zeigte sich, daß der Zusatz größerer Heparindosen zur Abnahme des ionisierten Calciums im Vollblut führt.

4 Aufgrund der weitgehenden pH-Unabhängigkeit der Carriermembran-Disk-Elektrode war es erstmals möglich, die Ca^{++}-Konzentration in Parotisspeichel und Urin elektroanalytisch zu bestimmen. Aus bisher noch ungeklärten Gründen fand sich hier bei zu Serummessungen eine deutliche Verringerung der Meßgeschwindigkeit.

5 Der Einsatz der Carriermembran-Disk-Elektrode zur kontinuierlichen Messung von Calciumionen in Vollblut und Pankreassekret wurde im Tierversuch demonstriert. Nach 20-minütiger Messung im Vollblut fand sich eine vernachlässigbare geringe Elektrodendrift. Im Pankreassekret konnte über 2 Stunden eine driftfreie Messung durchgeführt werden. Die beschriebene Meßanordnung ermöglichte aufgrund der hohen Meßgeschwindigkeit die Registrierung rasch ablaufender Veränderungen der Calciumionenkonzentration.

X Literaturverzeichnis

1 Ackermann, G., Jugelt, W., Möbius, H.-H., Suschke, H.D., Werner, G.
Elektrolytgleichgewichte und Elektrochemie.
Verlag Chemie. VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig (1974), Lizenzausgabe des Verlags Chemie Weinheim

2 Amman, D., Bissig, R., Cimerman, Z., Fiedler, U., Guggi, M., Morf, W.F., Oehme, M., Osswald, H., Pretsch, E., Simon, W.: Synthetic Neutral Carriers for Cations. In: Ion and Enzyme Electrodes in Biology and Medicine, Kessler, M., Clark, L.C., Lubbers, D.W., Silver, I.A., Simon, W. (eds.), p. 22. Berlin-Wien: Urban & Schwarzenberg 1976

3 Arnold, D.E., Stansell, M.J., Malvin, H.H.: Measurement of Serum Ionic Calcium Using a Specific Ion Electrode. Am. J. Clin. Path. 49, 627 (1968)

4 Camman, K.
Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden.
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1977)

5 Camman, K.
Fortschritte auf dem Gebiet der ionensensitiven Elektroden
Naturwissenschaften 57, 298 (1970)

6 Cattrall, R.W., Freiser, H.
Coated Wire Ion Selective Electrodes.
Anal. Chem. 43, 1905 (1971)

7 Dole, M.
The Glass Electrode, Methods, Applications and Theory.
J. Wiley & Sons, New York (1941)

8 Durst, R.A., Taylor, J.K.
Modification of the Fluoride Activity Electrode for Microchemical Analysis.
Anal. Chem. 39, 1483 (1967)

9 Eisenmann, G.
Similarities and Differences between Liquid and Solid Ion Exchangers and Their Useful ness as Ion Specific Electrodes.
Anal. Chem. 40, 310 (1968)

10 Fleischer, M., Schwartz, M.K.: Use of evacuated Collection tubes for Routine Determination of Arterial Blood Gases and pH. Clin. Chem. 17, 610 (1971)

11 Fuchs, Ch.
Ionenselektive Elektroden in der Medizin.
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1976)

12 Fuchs, C., Paschen, K., Spieckermann, P.G., v. Westberg, C.: Bestimmung des ionisierten Calciums im Serum mit einer ionenselektiven Durchflußelektrode: Methodik und Normalwerte.
Klin. Wschr. 50, 824 (1972)

13 Greenwald, I.
The Effect of Administration of Calcium Salts and of Sodium Phosphate upon the Calcium and Phosphorus Metabolism of Thyroparathyroidectomized Dogs, with a Consideration of the Nature of the Calcium Compounds of Blood and their Relation to the Pathogenesis of Tetany.
J. biol. Chem. 67, 1 - 28 (1926)

14 Hattner, R.S., Johnson, J.W., Bernstein D.S., Wachmann, A., Brackman, J.: Electrochemical Determination of Apparent Ionized Serum Calcium Using Selective Electrode: The Method and Values in Normal Humans and a Comparison to Total Serum Calcium. Clin. Chem. Acta 28, 67 (1970)

15 Heidland, A., Kreusser, W., Hennemann, H., Knauf, H. and Wigand M.E. 1972. Excretion of the mono- and divalent ions in relation to flow rate in Bartter's and Pseudo Bartter's Syndrome in parotid saliva. Comparative studies to the syndrome of Conn. Klin. Wschr. 50, 959 - 966.

16 Heidland, A., Kreusser, W., Hennemann, H., Knauf, H. and Wigand, M.E. 1972. Changes of salivary electrolyte excretion in uremia In: Uremia. An International Conference on Pathogenesis, Diagnosis an Therapy (Edited by Kluthe R., Berlyne G. and Burton B.). Thieme, Stuttgart.

17 Heidland, A., Hennemann, H., Lenhart, F.P., Kreusser, W. and Wigand, M.E. 1974. Ional and enzymatic composition of parotid saliva in arterial hypertension. In: Hypertension, Current Problems, Symposium Mainz 1973 (Edited by Distler A. and Wolff H.P.) p. 162. Thieme, Stuttgart.

18 Kielland, J.
Individual Activity Coefficients of Ions in Aqueous Solutions.
J. Am. Chem. Soc. 59 (1937), 1675

19 Kreusser, W., Heidland, A., Hennemann, H., Wigand, M.E. and Knauf H. 1972. Mono- and divalent electrolyte patterns, pCo_2 and pH in relation to flow-rate in normal human parotid saliva. Eur. J. clin. Invest. 2, 398 - 406.

20 Kukovetz, W.R.
Kalziumabhängige Funktionen des Herzmuskels
Wien.Klin.Wschr. 83, 616 - 623 (1971)

21 Lumb, G.A.
Determination of Ionic Calcium in Serum
Clin.chim.Acta 8, 33 - 38 (1963)

22 Maier, H., Antonczyk, G., Schindler, J.G., Heidland, A.
Effect of Verapamil on Ionized Calcium Excretion in Human Parotid Saliva.
Eur. J. Clin. Pharmacol. 16, 7 (1979)

23 Maier, H., Coroneo, M.T., Antonczyk, G., Heidland, A.
The Flow-Rate-Dependent Excretion of Ionized Calcium in Human Parotid Saliva.
Arch. oral Biol., Vol. 4, 225 (1979)

24 Maier, H., Coroneo, M.T., Antonczyk, G., Schindler, J.G., Heidland, A.
Alterations in Ionized and Total Calcium Concentrations in Parotid Saliva in Patients with Essential Hypertension.
Mineral. Electrolyte Metab. 3, 109 (1980)

25 Maier, H., Coroneo, M.T., Heidland, A.
Ionisiertes Calcium und Totalcalcium im Parotisspeichel bei Normalpersonen und essentiellen Hypertonikern.
Laryng.Rhinol. 57, 1013 (1978)

26 Maier, H., Geißler, M., Heidland, A., Schindler, J.G., Wigand, M.E.
Beeinflussung speichelchemischer Parameter in Abhängigkeit vom Menstruationszyklus.
Arch. Oto-Rhin.-Laryng.Vol. 223, No. 2 - 4, 185 (1979)

27 Maier, H., Röckel, A., Heidland, A., Schneider, D., Steffen, Ch., Aziz, O., Dennhard, R., Lindt, H.-O., Schindler, J.G.
Untersuchungen zur Leistungsfähigkeit calciumselektiver Disk-Elektroden mit elektrisch geladenen und neutralen Liganden bei anaeroben Serummessungen.
Res. exp. Med. 172, 75 - 81 (1978)

28 Maier, H., Röckel, A., Schmid, G., Heidland, A.: Simplified measurement of ionized calcium in serum using serum-monovettes and ion-selective disc-elektrodes
Res.Exp.Med. (Berl.) 173, 297 (1978)

29 McLean, F.C., A.B. Hastings
Clinical Estimation and Significance of Calcium-Ion Concentration in the Blood.
Amer.J.med.Sci. 189, 601 - 613 (1935)

30 McLean, F.C., A.B. Hastings
The State of Calcium in the Fluids of the Body. I. The Conditions affecting the Ionisation of Calcium.
J.biol.Chem. 108, 285 - 322 (1935)

31 Moody, G.J., Thomas, J.D. R.
Selective Ion Sensitive Electrodes.
Watford: Merrow Publishing Co. Ltd., England (1971)

32 Moore, E.W.: Ionized Calcium in Normal Serum, Ultrafiltrates and Whole Blood
Determination by Ion-Exchange Electrodes. J.Clin.Invest. 49, 318 (1970)

33 Oreskes, I., Hirsch, C., Douglas, K.S., Kupfer, S.:
Measurement of Ionized Calcium in Human Plasma with a Calcium Selective Electrode. Clin.Chim.Acta 21, 3o3 (1968)

34 Paschen, K.: Die Bestimmung des Calciums und seiner Fraktionen im Serum. Stuttgart: Thieme 1975

35 Pungor, E., Toth, K.
Selectivity of Ion-Specific Membrane Electrodes.
Anal. Chim. Acta 47, 291 (1969)

36 Raman, A.: Determination of Ionized Calcium in Serum with a Calcium Electrode. Biochem. Med. 3, 369 (1970)

37 Robertson, W.G.: Measurement of Ionized Calcium in Biological Fluids. Clin.Chim.Acta 24, 149 (1969)

38 Robertson, W.G., Peacock, M.: New Techniques for the Separation and Measurement of the Calcium Fractions of Normal Human Serum. Clin.Chim.Acta 20, 315 (1968)

39 Rona, P., D. Takahashi
Beitrag zur Frage nach dem Verhalten des Calciums im Serum.
Biochem.Z. 49, 370 - 380 (1913)

40 Rona, P., D. Takahashi
Über das Verhalten des Calciums im Serum und über den Gehalt der Blutkörperchen an Calcium.
Biochem.Z. 31, 336 - 339 (1911)

41 Rose, G.A.
Determination of the Ionized and Ultrafiltrable Calcium of Normal Human Plasma.
Clin.chim.Acta 2, 227 - 236 (1957)

42 Ross, J.W.: Calcium-Selective Electrode with Liquid Ion Exchanger. Science 156, 1378 (1967)

43 Schindler, J.G.: Multimeßsystem für die elektrochemische Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase.
Biomed. Techn. 22, 235 (1977)

44 Schindler, J.G., v. Gülich, M., Maier, H., Stork, G., Schäl, W., Braun, H.-E., Schmid, W., Karaschinski, K.-D.
Strömungsoptimiertes Multimeßsystem mit ionenselektiven Disk-Elektroden.
Fresenius Z. Anal. Chem. 301, 410 (1980)

45 Schindler, J.G., v. Gülich, M., Stork, G., Schmid, W., Karaschinski, K.-D., Braun, H.-E., Maier, H.
Ionenselektive Coated Glass-Elektroden.
Fresenius Z. Anal. Chem. 299, 115, (1979)

46 Schindler, J.G., Riemann, W.: Calciumselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen.
Biomed. Techn. 20, 76 (1975)

47 Schindler, J.G., Riemann, W.: Elektrochem. Multimeßsystem für Physiologie und Medizin. Koordinierte Forschung des Institutes für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität Marburg/ Lahn und der Dr. E. Fresenius Chemisch-pharmazeutische Industrie KG Apparatebau KG in Bad Homburg v.d.H. , 1. Aufl. 1977

48 Schindler, J.G., Riemann, W.: Scheiben-Elektrode. Biomed. Techn. 20, 75 (1975)

49 Schindler, J.G., Maier, H., Jaros, G.G., Aziz, O., Steffen, Ch.
Continuous and Discontinuous Ionography of the Pancreatic Juice and the Parotic Saliva Using Carrier-Membrane Disc-Electrodes Med. Progr. Technol. Vol. 7 No. 1, 29 (1980)

50 Schindler, J.G., Mönnich, A., Riemann, W., Braun, H.E.: Ionenselektive Multi-Disk-Elektrode. Biomed. Techn. 22, 209 (1977)

51 Seamonds, G., Towfighi, J., Arvan, D.A.: Determination of Ionized Calcium in Serum by Use of an Ion-selective Electrode. Clin.Chem. 18, 155 (1972)

Meinem Lehrer, Herrn Prof. Dr. med. A. Heidland, danke ich für die Überlassung des Themas und für die beständige Anleitung und Führung bei der Bearbeitung.

Herrn Prof. Dr. med. K. Kochsiek, Direktor der Medizinischen Universitätsklinik, bin ich für die Übernahme des Korreferates zu Dank verbunden.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Priv. Doz. Dr. Dr. J.G. Schindler vom Institut für Angewandte Physiologie der Universität Marburg für die kostenlose Bereitstellung der eingesetzten Meßsysteme und die beispiellose Unterstützung über den gesamten Verlauf der Arbeit.

Mein Dank gilt weiterhin Frl. Christine Stöhr für die exakte und gewissenhafte Bestimmung des Gesamtcalciums.

L e b e n s l a u f

Name	:	Heinz Maier
Geburtstag	:	18.08.1952
Geburtsort	:	8750 Aschaffenburg
Familienstand	:	ledig
Eltern	:	Klaus Maier, freischaffender Künstler Christine Maier geborene Rickert

Werdegang :

1959 - 64	:	Volksschule Aschaffenburg
1964 - 71	:	Friedrich - Dessauer Gymnasium in Aschaffenburg
1971 - 73	:	Hohe Landesschule in Hanau
1973 - 79	:	Studium der Humanmedizin an der Universität Würzburg
SS 75	:	Physikum
SS 76	:	1. Staatsexamen
SS 78	:	2. Staatsexamen
WS 78/79, SS 79	:	praktische Ausbildung in den Universitätskliniken Würzburg HNO (Prof. Kley) Innere Medizin (Prof. Kühn) Chirurgie (Prof. Kern)
Oktober 1979	:	Staatsexamen
November 1979	:	Approbation
Von Januar bis Juni 1980	:	Wissenschaftliche Hilfskraft an der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg (Direktor Prof. Kühn)
Von Juni bis Oktober 1980	:	Forschungsaufenthalt am Groote - Schuur - Hospital in Kapstadt
Seit Oktober 1980	:	Wissenschaftliche Hilfskraft an der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg (Direktor Prof. Kochsiek)

Würzburg, den 6. Januar 1981

Andreas Staudenraus Druckerei GmbH Münzstraße 4 8700 Würzburg